EXPOSÉ DES TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DU

Dr Georges LINOSSIER

AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON



VALENCE

IMPRIMERIE TYPOGRAPHIQUE DE JULES CÉAS & FILS

—

1891

TITRES SCIENTIFIQUES ET FONCTIONS

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON

Licencié ès sciences physiques (1877).

Préparateur de chimie médicale et pharmaceutique (1877).

Docteur en médecine (1882).

Chef de travaux de chimie médicale et pharmaceutique (1883).

Agrégé de chimie (1883).

ENSEIGNEMENT

1879-1880. — *Semestre d'été* : Conférences de toxicologie, en remplacement de M. Chapuie, maître de conférences.

1881-1882. — *Semestre d'été* : Conférences d'urologie.

1882-1883. — Travaux pratiques.

1883-1884. — *Semestre d'hiver* : Travaux pratiques.
Semestre d'été : Coure auxiliaire de chimie analytique. Travaux pratiques.

1884-1885. — *Semestre d'hiver* : Cours de chimie minérale en remplacement de M. le professeur Glénard.
Semestre d'été : Conférences de toxicologie. Travaux pratiques.

1885-1886. — *Semestre d'hiver* : Travaux pratiquee.
Semestre d'été : Cours de pharmacie en remplacement de M. le professeur Crolae (deux mois). Conférencee de toxicologie.

1886-1887. — *Semestre d'hiver* : Travaux pratiques.
Semestre d'été : Conférencee de chimie biologique. Travaux pratiques.

1887-1888. — *Semestre d'hiver* : Cours de chimie minérale en remplacement de M. le professeur Glénard. Travaux pratiques.
Semestre d'été : Conférences de chimie biologique. Travaux pratiques.

1888-1889. — *Semestre d'hiver* : Cours de chimie minérale en remplacement de M. le professeur Glénard. Travaux pratiques.
Semestre d'été : Conférences de chimie biologique. Travaux pratiques.

1889-1890. — *Semestre d'hiver* : Travaux pratiques.
Semestre d'été : Conférences do chimie biologique. Travaux pratiques.

1890-1891. — *Semestre d'hiver* : Travaux pratiques.
Semestre d'été : Cours de chimie minérale. Conférences de chimie biologique. Travaux pratiques.

RÉCAPITULATION

Dans l'intervalle de onze ans, j'ai fait à la Faculté de médecine de Lyon quinze cours ou conférences semestriels, portant sur la chimie analytique, la toxicologie, la chimie biologique, l'hydrologie, et la chimie minérale, et notamment quatre fois le cours magistral de chimie minérale.

ENSEIGNEMENT EXTRA UNIVERSITAIRE

Cours de chimie minérale à la Société d'enseignement professionnel du Rhône, pendant les années 1882-1883 et 1883-1884.

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I

RECHERCHES ORIGINALES

1. — **De la présence du plomb dans le sous-nitrate de bismuth.** *(Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 1878.)* En collaboration avec M. A. Chapuis.

M. Ad. Carnot avait annoncé que le sous-nitrate de bismuth commercial renferme constamment du plomb, en quantité assez notable pour solliciter l'attention des hygiénistes. A la suite de ce travail, M. le Ministre du Commerce avait cru devoir attirer sur cette impureté l'attention des jurys médicaux.

J'ai repris les expériences de M. Carnot, démontré l'insuffisance de la méthode analytique employée par lui, et décrit un procédé qui permet de déceler aisément cinq dix millièmes de plomb dans trois grammes de sous-nitrate de bismuth. Il suffit, pour obtenir ce résultat, de faire bouillir le sous-nitrate suspect avec un mélange de soude

caustique et de chromate de potassium. La liqueur filtrée, saturée par l'acide acétique, laisse précipiter le plomb à l'état de chromate.

Ce procédé est aujourd'hui couramment utilisé, et sa description se trouve dans tous les traités de pharmacie.

Il nous a permis de constater :

1° Que le danger signalé par M. Carnot était notablement exagéré : sur douze échantillons de sous-nitrate de bismuth examinés par nous, neuf furent trouvés exempts de plomb, ou du moins ce métal s'y trouvait dans une proportion moindre que 1/5000; deux en renfermaient près de 1/1000, un seul en contenait une quantité assez forte, voisine de 7/1000.

2° Que la quantité de plomb contenue dans un sous-nitrate de bismuth est en relation avec la teneur en sulfate de chaux de l'eau qui a servi à le préparer.

Ces résultats sont en parfaite concordance avec les conclusions d'un travail de M. Riche.

2. — **Quelques expériences sur la bile.** *(Thèse de la la Faculté de Médecine de Lyon, 1882.)*

Ce travail, fait dans le laboratoire de M. le professeur Lépine, et sous son inspiration, se compose de deux parties :

Dans la première, j'étudie les modifications qui se produisent dans la composition chimique de la bile à la suite de la transfusion du sang. D'après M. Hayem, les globules sanguins, transfusés d'un organisme dans un autre, ne s'y acclimatent pas ; ils se détruisent toujours, mais cette destruction est moins rapide après la transfusion du sang complet, qu'après la transfusion du sang défibriné. L'étude de la bile, après l'une et l'autre opération, devait permettre de constater cette différence, puisqu'une

partie au moins des produits de destruction du globule sanguin s'élimine par les voies biliaires.

On apprécia dans ces recherches les variations de composition de la sécrétion biliaire d'après les variations de trois éléments : l'azote, le soufre, le fer.

L'azote est un terme commun à beaucoup de composés biliaires ; sa proportion sert en quelque sorte de mesure de la concentration de la bile. Le soufre existe dans la bile à peu près exclusivement à l'état d'acide taurocholique ; cet acide étant, non seulement éliminé, mais élaboré par le foie, les variations dans les proportions de soufre peuvent permettre d'évaluer les variations d'activité de la glande hépatique (en tant qu'organe secréteur de la bile). Les quantités de fer, enfin, sont en relation étroite avec les quantités d'oxyhémoglobine détruite.

Six expériences comparatives furent effectuées et fournirent des résultats on ne peut plus nets :

1° Après la transfusion au chien de sang de chien défibriné, on retrouve d'une manière constante de l'oxyhémoglobine en nature dans la bile ; après la transfusion de sang complet, on n'en retrouve jamais.

Il est à noter que l'élimination d'hémoglobine par les voies biliaires n'a jamais été accompagnée, dans mes expériences, d'hémoglobinurie. Le foie paraît donc être un filtre plus perméable à l'oxyhémoglobine que le rein.

2° Après transfusion de sang complet, le rapport du fer à l'azote dans la bile varie entre 0,31 et 0,51 °/ₒ (à l'état normal je l'ai trouvé en moyenne de 0,35). Après la transfusion de sang défibriné il atteint 1,35 °/ₒ (en moyenne 1,14). La destruction de l'oxyhémoglobine est donc notablement plus active après la transfusion du sang défibriné.

3° Après toute transfusion le rapport du soufre à l'azote dépasse la normale, mais il s'élève surtout dans la transfusion de sang complet. Comme je l'indiquais plus

haut, on doit en conclure que la transfusion produit toujours une action excitante sur la sécrétion biliaire, et que cette action est plus marquée après la transfusion de sang complet.

La deuxième partie de mon travail résume un certain nombre d'expériences relatives à la sécrétion biliaire :

1° Je me suis efforcé de fixer les quantités d'azote, de soufre et de fer contenues dans la bile du chien à l'état normal. Les résultats sont exprimés par les nombres suivants rapportés à 1,000 parties de bile.

	Biles vésiculaires	Biles de fistules
Az	6,5	4,8
S	10,5	0,79
Fe	0,017	0,017

Ces nombres apportent la confirmation de deux phénomènes antérieurement connus, la concentration plus grande de la bile vésiculaire, et sa richesse relative en soufre. Ils montrent de plus qu'il n'y a pas dans les proportions de fer de différences sensibles.

2° On sait que Schiff a appelé l'attention des physiologistes sur la circulation dans l'organisme de certains produits biliaires, et notamment des sels biliaires, qui, versés dans l'intestin, sont résorbés dans le sang et repris par le foie, pour être à nouveau éliminés par la bile. A la suppression de cette circulation, est due la diminution considérable qu'on observe dans la proportion des acides biliaires de la bile, quand celle-ci s'écoule par une fistule en dehors de l'intestin.

J'ai cherché à préciser quelques conditions de cette résorption et ai constaté les deux faits suivants :

(a) L'introduction d'acide taurocholique dans l'intestin du chien provoque une augmentation notable de la

quantité de soufre de la bile, et l'excès de soufre éliminé par la bile sous cette influence est supérieur à la quantité de cet élément ingéré à l'état d'acide taurocholique (dans le rapport 1,6/1). Il faut donc admettre que, non seulement cet acide est résorbé, mais que sa résorption produit une excitation de la sécrétion biliaire.

L'introduction de taurine dans l'intestin agit dans le même sens sur la proportion de soufre de la bile, mais l'excès de soufre éliminé par la bile sous cette influence est notablement inférieure à la quantité de cet élément ingérée à l'état de taurine. Cette expérience permet de soupçonner que la portion de l'acide taurocholique qui, dans l'intestin normal, subit un dédoublement en acide cholalique et taurine, échappe en partie au phénomène de la circulation, et ne fait pas retour à la bile.

3° Les substances dites cholagogues ne provoquent pas un accroissement parallèle dans les proportions des divers éléments de la bile. Sous leur influence la sécrétion devient à la fois plus aqueuse et plus riche en soufre. L'augmentation relative du soufre (c'est-à-dire de l'acide taurocholique) dans la bile de chien doit être considérée comme la manifestation la plus nette d'un excès d'activité de la sécrétion biliaire.

A ce point de vue, le sublimé corrosif doit être considéré comme le plus puissant des quelques cholagogues dont j'ai essayé l'action, puis viennent le sulfate de sodium, la pilocarpine, et en dernier lieu le bicarbonate de sodium, qui semble plus un fluidifiant de la bile qu'un véritable cholagogue.

3.— **A propos de la médication ferrugineuse.** *(Comptes rendus de la Société de biologie, 1885.)* En collaboration avec M. Ch. Debierre.

Les conclusions de ce travail sont les suivantes :

1° Sous l'influence de la médication ferrugineuse, la richesse du sang en fer augmente sensiblement, et beaucoup plus vite que le nombre des globules : c'est ainsi que, chez un chien anémié par une forte saignée, la quantité de fer contenue dans un kil. de sang, qui était avant la saignée 0 gr. 518, s'éleva, sous l'influence d'un traitement ferrugineux prolongé un mois, à 0 gr. 557, soit une augmentation de 7,5 °/₀. Le nombre des globules n'avait cru dans le même temps que de 4 °/₀. Cette constatation corrobore celles de M. le professeur Hayem. Elle s'en distingue en ce que, pour la première fois, l'augmentation de la proportion de fer dans le sang était établie directement par un dosage du fer, au lieu de l'être par une évaluation colorimétrique de l'oxyhémoglobine.

2° Pendant toute la durée du traitement ferrugineux, l'excrétion de l'urée est notablement diminuée (dans la proportion de 33 °/₀), malgré la persistance du même régime alimentaire. La médication ferrugineuse provoque donc un ralentissement dans la désassimilation des matériaux azotés. Ce résultat est en contradiction avec les chiffres fournis par Petrowski, et, en général, avec les résultats de l'expérimentation clinique, mais cette contradiction est facile à expliquer : les malades soumis à un traitement ferrugineux ne sont pas en effet, comme dans nos expériences, astreints à un régime invariable ; la médication martiale a au contraire, comme adjuvant habituel, une alimentation abondante et fortement azotée. Il n'est pas surprenant que, dans de semblables conditions, on constate une augmentation dans l'excrétion de l'urée ;

mais le fer n'y est pour rien. Dans nos expériences, au contraire, les variations d'excrétion de l'urée ont été étudiées, en écartant avec soin l'influence perturbatrice de l'alimentation, et cette excrétion a paru nettement diminuée. Un résultat immédiat du ralentissement dans la combustion des albuminoïdes est l'augmentation du poids de l'animal.

Dans la même note, nous décrivons un procédé de dosage du fer dans le sang, qui fournit des résultats très exacts. Il se résume dans les opérations suivantes :

1° Carbonisation du sang additionné d'un peu de soude caustique ;

2° Incinération complète du résidu, en présence d'azotate de potasse finement pulvérisé ;

3° Dissolution des cendres dans l'eau régale ;

4° Précipitation par l'ammoniaque du fer en dissolution ;

5° Dissolution dans le moins possible d'acide chlorhydrique du précipité soigneusement lavé ;

6° Dosage volumétrique du fer dans la solution chlorhydrique par la méthode de Margueritte, modifiée comme il est dit dans la note suivante.

Quand on se contente, comme le conseille Pelouze, de calciner le sang, de dissoudre les cendres dans l'acide chlorhydrique, puis de doser par le permanganate de potassium le fer dans cette dissolution, on se heurte aux difficultés suivantes :

1° Il peut se volatiliser, pendant la calcination, un peu de chlorure ferrique ;

2° Il est presque impossible de dissoudre dans l'acide chlorhydrique le peroxyde de fer, qui a été fortement calciné ;

3° On est obligé d'employer pour cette dissolution un excès d'acide chlorhydrique, qui rend difficile le dosage du fer par le permanganate de potassium.

4. — **Sur le dosage du fer par la méthode de Marguerite.** *(Journal de pharmacie et de chimie 1885.)*

Dans la méthode de Marguerite, on recourt généralement, pour effectuer la transformation des sels ferriques en sels ferreux, au zinc métallique. L'emploi de ce métal présente deux inconvénients : son action est lente, et il est difficile de se le procurer tout à fait exempt de fer. L'acide sulfureux, qui peut être substitué au zinc, exerce lui-même une action réductrice sur le permanganate, et l'excès ne peut être que difficilement chassé du liquide par l'ébullition. Quand le dosage porte sur un poids suffisant de fer, l'erreur, qui résulte des causes que je viens de signaler, est négligeable ; mais il n'en est plus de même, quand il s'agit d'évaluer des traces minimes de fer, comme dans les eaux minérales, et les liquides ou tissus des êtres vivants.

J'obtiens, pour la réduction des composés ferriques, des résultats excellents de l'emploi, dans des conditions exactement déterminées dans ma note, de l'hydrogène sulfuré. La réaction terminée, la plus grande partie du gaz en excès est chassée par l'ébullition, et les dernières traces absorbées par une goutte d'une solution de chlorure mercurique. Le chlorosulfure de mercure blanc qui se précipite est sans action immédiate sur le permanganate, et sa présence dans le liquide n'enlève rien à la netteté de la réaction finale.

5. — **A propos des propriétés réductrices du pyrogallol. Action sur les sels de fer et de cuivre.** *(Comptes rendus de l'Académie des sciences et Bulletin de la Société chimique, 1885.)* En collaboration avec M. Cazeneuve.

Les sels ferreux, exempts de sels ferriques, ne sont pas colorés par le pyrogallol ; mais l'air, en agissant sur

le mélange des deux corps, provoque l'apparition d'une coloration bleue intense.

Au contact du pyrogallol et d'un sel ferrique, la coloration bleue apparaît immédiatement. Elle est persistante, quand l'acide du sel est un acide organique, elle disparaît au contraire presque instantanément pour faire place à une coloration rouge brun, si l'acide du sel est minéral. Un peu d'alcali fait reparaître la couleur bleue, un excès fait virer la nuance au rouge.

Pour M. Jacquemin, qui a longuement étudié cette réaction (*comptes rendus de l'Académie des sciences, t. LXXVII, p.* 593, *et t. LXXVIII, p.* 1155. *Annales de chimie et de physique* (4) *t. XXX, p.* 566 ; *ibid.* (5) *t. II, p.* 265), il se forme dans ces réactions une base pyrogalloferrique.

Nos recherches prouvent qu'il n'en est rien, que le pyrogallol réduit instantanément les sels ferriques en s'oxydant lui-même, et que le composé bleu, loin d'être une combinaison pyrogalloferrique, est une combinaison ferreuse d'un produit d'oxydation du pyrogallol.

Cette combinaison est détruite par les acides minéraux, mais non par les acides organiques. Si, dans l'action d'un sel ferrique à acide minéral sur le pyrogallol, la coloration bleue est fugace et vire presque immédiatement au rouge, c'est parce que la réduction du sel ferrique a pour conséquence la mise en liberté d'un tiers de son acide, et que cet acide libre détruit la combinaison oxypyrogalloferreuse. La coloration rouge du mélange est celle du pyrogallol oxydé.

Nous montrons dans la même note, que l'action du pyrogallol sur les sels de cuivre est en tous points comparable à son action sur les sels de fer. Il réduit les sels cuivriques, et le produit d'oxydation qui résulte de cette réaction réagit sur le composé cuivreux formé pour constituer une combinaison oxypyrogallocuivreuse.

M. Jacquemin n'a pas maintenu ses premières conclusions.

6. — **Sur une prétendue synthèse du saccharose.** *(Journal de pharmacie et de chimie, 1885.)* En collaboration avec M. Cazeneuve.

Cette note renferme la relation d'un certain nombre d'expériences destinées à démontrer l'impossibilité d'une prétendue synthèse du saccharose, dont l'annonce avait causé une certaine émotion dans le monde scientifique et industriel.

7. — **Sur la présence du rouge de roccelline dans un safran.** (*Journal de pharmacie et de chimie, 1886.*) En collaboration avec M. Cazeneuve.

Nous avons eu l'occasion d'examiner un échantillon de safran, qui avait été dépouillé d'une partie de sa matière colorante, et imprégné de rouge soluble (sulfo conjugué sodique de la roccelline). Dans notre note nous indiquons le procédé qui nous a permis de découvrir la falsification, et de déterminer le rouge soluble.

Nous décrivons en outre le procédé suivant, qui permettrait, le cas échéant, de retrouver dans un safran le jaune de binitronaphtol, employé comme succédané de ce colorant dans certaines fabriques de pâtes alimentaires :

Si on plonge dans l'infusion d'un safran falsifié par du binitronaphtol, additionnée d'acide tartrique, et portée à l'ébullition, un écheveau de laine, celui-ci se teint plus rapidement et prend une couleur plus vive que dans l'infusion du safran normal. La laine ainsi teinte, traitée par quelques gouttes d'acide sulfurique, puis par l'ammoniaque diluée, conserve une couleur jaune, tandis que la laine teinte avec l'infusion d'un safran naturel, vire au bleu par l'acide sulfurique et se décolore par l'ammoniaque.

8. — **De la localisation du baryum dans l'organisme à la suite de l'intoxication chronique par un sel de baryum.** (*Comptes rendus de la Société de biologie 1887.*)

Neumann (*archiv für die gesammte physiologie* t. XXXVI, p. 576) conclut d'une série d'expériences faites sur des lapins et des chiens, que, après une intoxication chronique par les sels de baryum, on ne retrouve ce métal que dans les os.

J'ai obtenu en opérant sur le lapin des résultats tout opposés : Après trente jours, pendant lesquels l'animal recevait, avec sa nourriture, des doses de carbonate de baryum variant de 0 gr. 50 à 1 gr. 50, on constata que *tous* les organes et tissus de l'animal renfermaient du baryum, mais en proportion différente :

Les poumons, les muscles, et en particulier le cœur n'en présentent que des traces.

Le foie en contient une proportion plus sensible.

Les reins, le cerveau et la moelle en renferment encore davantage.

Enfin les os, comme l'ont d'ailleurs constaté tous les expérimentateurs, sont le tissu où le baryum s'accumule le plus. La proportion la plus forte qui y ait été trouvée est de 0,56 de baryum pour 1,000 parties de cendres d'os (vertèbres).

Ces recherches établissent nettement que, contrairement à l'opinion de Neumann, dans les intoxications chroniques par les sels de baryum, ce métal se diffuse dans tout l'organisme, comme les autres métaux toxiques.

9. — **Sur une combinaison de l'hématine avec le bioxyde d'azote.** (*Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1887.*)

On sait que l'hémoglobine possède la propriété de former des combinaisons cristallisées avec un certain nombre de gaz. Il est intéressant de savoir si ceux-ci peuvent se combiner à l'hématine, et si, par conséquent, la propriété de fixer les gaz appartient dans l'hémoglobine au noyau albuminoïde ou au noyau colorant ferrugineux.

J'ai réussi à préparer, par trois procédés différents, la combinaison de l'hématine avec le bioxyde d'azote : 1° par l'action directe du bioxyde d'azote sur l'hématine ou l'oxyhématine en solution dans l'alcool ammoniacal ; 2° en décomposant par les alcalis l'hémoglobine oxyazotique ; 3° en traitant par un réducteur (sulfure alcalin ou sel ferreux) une solution ammoniacale d'oxyhématine additionnée d'une trace d'un azotite.

Le corps obtenu par un quelconque de ces procédés est moins soluble dans l'alcool ammoniacal que l'oxyhématine ; sa solution est rouge, non dichroïque, et présente, quand on l'examine au spectroscope, un spectre d'absorption constitué par deux bandes, situées entre les raies D et E de Frauenhofer. Ce spectre peut être confondu, à un examen superficiel, avec celui de l'hémoglobine oxyazotique, ce qui explique l'erreur commise par les chimistes, qui ont considéré l'hémoglobine oxyazotique comme résistant à l'action des alcalis.

Les réducteurs sont sans action sur l'hématine oxyazotique en solution ammoniacale ; l'oxygène libre la transforme en oxyhématine en même temps que le bioxyde d'azote passe à l'état d'azotite alcalin.

Il semble y avoir contradiction entre ces deux faits que l'oxygène déplace le bioxyde d'azote de sa combinaison avec l'hématine, et est pourtant déplacé par lui

dans l'oxyhématine ; mais il faut remarquer que la substitution s'accompagne, dans l'un et l'autre cas, de la transformation d'une certaine quantité de bioxyde d'azote en azotite alcalin, transformation qui communique à la réaction dans son ensemble un caractère exothermique.

10. — **Sur la recherche spectroscopique du sang.** (*Bulletin de la Société chimique, 1888, et Annales d'hygiène publique et de médecine légale, 1889.*)

Au cours des recherches précédentes sur la matière colorante du sang, j'ai été amené à comparer, au point de vue de leur intensité, les spectres d'absorption de l'hémoglobine et de ses dérivés, et j'ai fait à ce sujet une observation inattendue : contrairement à l'opinion universellement admise et professée, ce n'est pas l'oxyhémoglobine dont les bandes d'absorption fournissent la réaction spectrale la plus sensible du sang, mais bien l'hématine réduite (hémochromogène d'Hoppe Seyler). En d'autres termes, avec une solution d'oxyhémoglobine, qui, soumise à l'analyse spectrale, ne donne lieu à aucune absorption caractéristique de la lumière, il est possible de constater un spectre fort net, à la condition de transformer par des réactions convenables cette oxyhémoglobine en hématine réduite (1).

Cette observation m'a permis d'introduire, dans les procédés de recherche du sang par la voie spectroscopique, quelques modifications qui augmentent à la fois leur sensibilité et leur valeur.

---

(1) Je rappelle à ce propoe que, dès 1877, M Cazeneuve avait constaté que le spectre de l'hématine réduite est beaucoup plus beau que celui de l'oxyhématine, et conseillé, pour caractérieer les tachee de sang altérées par la putréfaction, de les diesoudre dans l'eau ammoniacale bouillante, et d'ajouter une goutte d'hydrosulfite de sodium dane le tube à examen spectroecopique.

Voici comment je conseille d'opérer :

1° La tache de sang est dissoute dans l'eau avec les précautions habituelles, et l'on cherche d'abord à constater la présence du spectre bien connu de l'oxyhémoglobine ;

2° La solution sanguine est additionnée d'une goutte d'une dissolution d'hydrosulfite de sodium qui fait apparaitre instantanément le spectre de l'hémoglobine réduite ;

3° On ajoute ensuite au liquide une ou deux gouttes d'une lessive concentrée de soude caustique ; sous l'influence de ce réactif, l'hémoglobine se dédouble, comme l'a montré Hoppe Seyler, en globuline et hématine réduite, dont le spectre est d'une admirable netteté.

Ce dernier essai donne seul un résultat positif quand la solution sanguine est extrêmement étendue. Comme il serait difficile d'étayer une conclusion sur une seule réaction spectroscopique, on devra s'assurer que le spectre obtenu est bien celui de l'hématine, à l'aide des deux expériences suivantes :

(a) La bande unique, dont on constate la présence, quand la solution sanguine est très diluée, doit disparaitre par une légère élévation de température (vers 50°) et reparaître par refroidissement de la liqueur.

(b). Elle doit disparaitre par l'agitation à l'air de la dissolution (l'hématine réduite se transformant en oxyhématine) et reparaitre par l'addition d'une nouvelle goutte d'hydrosulfite de sodium.

Dans les cas où l'on aura pu observer, avec plus ou moins de netteté, le spectre de l'oxyhémoglobine, mais non celui, notablement moins intense, de l'hémoglobine réduite, la recherche du spectre de l'hématine réduite pourra seule transformer en certitude une simple présomption, insuffisante, de l'aveu de tous les experts, pour permettre une affirmation.

Dans les cas enfin où les deux spectres de l'oxyhémoglobine et de l'hémoglobine auront pu être perçus, bien que la preuve de la présence du sang soit généralement considérée comme faite, il sera prudent de rechercher, dans la constatation du spectre de l'hématine réduite, une confirmation, aussi éclatante que simple à obtenir, du résultat des deux premiers essais. Nous ne connaissons pas les caractères spectroscopiques des innombrables matières colorantes que l'industrie crée chaque jour. Qui sait si une d'elles ne pourrait pas, dans un examen trop superficiel, être confondue avec la matière colorante du sang ?

Dans le cas où la matière colorante du sang a été profondément modifiée par la putréfaction, le mieux est de dissoudre la tache de sang dans l'ammoniaque, et de réduire la solution ammoniacale par une goutte ou deux d'une dissolution de sulfate ferreux additionnée d'acide tartrique. Le spectre de l'hématine réduite apparait nettement, même si la tache de sang a subi l'action destructrice des alcalis fixes, ce qui empêche, comme l'on sait, de recourir à la précieuse réaction des cristaux d'hémine.

Ce mémoire, communiqué par M. le professeur Brouardel, à la Société de médecine légale (séance du 9 avril 1888), y a été l'objet de critiques extrêmement vives de la part de M. Gabriel Pouchet.

Emue de ces critiques, la Société décida, sur la proposition de M. Bouchereau et de M. Constant, de surseoir à la publication de mon mémoire jusqu'à ce qu'une commission se fut prononcée sur sa valeur. M. Gabriel Pouchet fût chargé de cet examen préalable avec MM. Ogier et Vibert, qui, comme lui, mais en termes plus modérés, avaient critiqué mon travail.

Le rapport de la commission n'a paru qu'après plus d'un an, dans les annales d'hygiène et de médecine légale (août 1889). Il confirme absolument les conclusions de mon mémoire :

« Nous avons, disent MM. Gabriel Pouchet, Ogier et Vibert, répété les expériences qui font l'objet de la note de M. Linossier et nous en avons vérifié l'exactitude. » Puis après avoir décrit en détail la série d'opérations que je conseille pour la recherche du sang : « Cet ensemble de réactions constitue évidemment un faisceau de preuves qui ne laisse place à aucun doute. »

11. — **Sur le dosage des gaz dissous dans l'eau** (*Annales de la Société des sciences industrielles, 1887*).

Les appareils, dans lesquels l'eau à analyser est soumise à l'ébullition, ne permettent pas de déterminer la quantité de gaz contenue dans l'eau à l'état de dissolution simple. Une partie de l'acide carbonique combiné se dégage en effet à l'ébullition. La machine pneumatique à mercure, qui permet d'opérer l'extraction des gaz dissous avec une grande exactitude, n'est d'ailleurs pas un appareil facilement transportable, inconvénient d'autant plus grand que le dosage des gaz de l'eau n'a d'intérêt que s'il est effectué au moment même du puisage.

J'ai proposé un appareil de construction simple, facile à transporter, utilisant, comme celui de M. Armand Gautier, le vide produit par l'ébullition de l'eau, et permettant d'obtenir séparément dans une même opération ce qu'on désigne en hydrologie, sous les noms de : 1° gaz à l'état de simple dissolution ; 2° acide carbonique faiblement combiné ; 3° acide carbonique fortement combiné.

12. — **Nouvelle méthode générale de séparation et dosage volumétrique des acides : Application au dosage de l'acide sulfurique** (*Bulletin de la Société chimique de Paris, 1886*).

Cette méthode peut s'appliquer à tous les acides capables de fournir, avec un des métaux précipitables par

l'hydrogène sulfuré en solution acide, une combinaison insoluble : on sépare l'acide de sa dissolution en provoquant la formation de cette combinaison insoluble, puis on décompose cette dernière par l'hydrogène sulfuré, et on dose directement par la méthode acidimétrique l'acide mis en liberté, soit après élimination par ébullition de l'hydrogène sulfuré, soit en employant un réactif indicateur insensible à l'action de ce corps, l'orangé Poirrier par exemple.

Ainsi l'acide sulfurique peut être dosé en le précipitant à l'état de sulfate de plomb, puis en décomposant ce sulfate, préalablement lavé à l'eau alcoolisée, par l'hydrogène sulfuré, et finalement en dosant l'acide sulfurique libre à l'aide d'une solution décime normale de soude. Les détails de l'opération sont décrits dans ma note.

L'opération est assez rapide, et, si elle est bien conduite, les résultats sont rigoureusement exacts. Bien entendu, cette méthode n'est applicable qu'en l'absence d'acides possédant la double propriété de réagir sur l'orangé Poirrier, et de donner un précipité par les sels de plomb. Toutes les causes qui amènent une perturbation dans le dosage du plomb à l'état de sulfate (présence des sels ammoniacaux, de l'acide azotique libre, etc...) compromettent d'ailleurs l'exactitude des résultats.

13. — **Dosage de l'acide phosphorique.** *(Bulletin de la Société chimique de Paris, 1888.)*

Pour doser l'acide phosphorique, en utilisant le principe de la méthode exposée dans la note précédente, on le précipite à l'état de phosphate de bismuth, en suivant les indications fournies par Chancel. Le phosphate de bismuth est décomposé par l'hydrogène sulfuré, et l'acide phosphorique, ainsi mis en liberté, est dosé, en présence de l'orangé Poirrier, avec une dissolution décime normale

de soude. Il est utile d'éliminer par ébullition l'hydrogène sulfuré en excès. Les détails de l'opération sont décrits dans la note originale. Les résultats sont rigoureusement exacts.

14. — **Dosage du chlore.** *(Bulletin de la Société chimique de Paris, 1888).* En collaboration avec M. Lignon.

On pourrait doser le chlore, dans les chlorures, en le précipitant à l'état de chlorure d'argent, décomposant le chlorure d'argent par l'hydrogène sulfuré, et dosant par la méthode acidimétrique l'acide chlorhydrique devenu libre.

Toutefois, comme le précipité caillebоté de chlorure d'argent s'attaque mal, dans sa masse, par l'hydrogène sulfuré, il sera plus facile, dans la plupart des cas, de précipiter la solution de chlorure par un faible excès d'azotate mercureux. On décomposera par l'hydrogène sulfuré le chlorure mercureux, et on dosera l'acide libre avec une liqueur décime normale de soude, en présence de l'orangé Poirrier.

Le procédé peut être utilisé pour le dosage du chlore dans l'urine. On opérera, comme il vient d'être dit, avec 10^c.c. d'urine acidulés d'acide azotique. Les résultats sont parfaitement concordants avec ceux que fournit la méthode de Mohr, et on évite une calcination.

15. — **Sur le dosage volumétrique des acides.** *(Bulletin de la Société chimique de Paris 1888).*

A l'occasion de la première des trois notes précédentes, M. Engel (*Bulletin de la Société chimique de Paris*, t. L, p. 197), rappela qu'il avait indiqué et employé, dans différentes recherches, une méthode identique à la mienne. Dans cette nouvelle note, je fais remarquer qu'il suffit de

lire le travail publié par ce savant, sous le titre : *Observations sur l'emploi de l'orangé 3 ou méthylorange comme indicateur* (*Bull.*, t. XLV, p. 424), pour se convaincre qu'il existe entre son procédé et le mien une différence notable.

« C'est Gibbs qui, en 1868, a le premier conseillé de doser les acides dans certains sels, en précipitant le métal par l'hydrogène sulfuré, et en évaluant, par un titrage acidimétrique, l'acide mis en liberté. M. Engel, par l'emploi judicieux comme indicateur de l'orangé Poirrier, sur lequel l'hydrogène sulfuré est sans action, a rendu plus pratique ce procédé ; mais il n'en restait pas moins d'une application extrêmement limitée. Il ne permettait de doser que les acides combinés à des métaux précipitables par l'hydrogène sulfuré; il ne donnait, d'ailleurs, aucun moyen de séparer ces acides les uns des autres.

« En proposant d'engager l'acide à doser dans une combinaison insoluble convenablement choisie (sulfate de plomb, phosphate de bismuth, chlorure mercureux), puis de le titrer par les procédés acidimétriques, après l'avoir dégagé de cette combinaison par l'hydrogène sulfuré, j'ai institué une méthode beaucoup plus générale, puisqu'elle permet de doser les acides, quel que soit le métal auquel ils sont combinés, et, dans bien des cas, de les séparer les uns des autres. L'emploi de l'orangé Poirrier, indiqué par M. Engel comme réactif indicateur des acides énergiques en présence de l'hydrogène sulfuré, contribue à la rendre très exacte et d'une mise en œuvre facile. »

16. — **Action de l'oxyde de carbone sur la germination.** (*Comptes rendus de la Société de biologie, 1888.*)

Dans ses *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses*, Claude Bernard avance que la germination des graines de cresson alénois ne se produit pas

dans de l'air renfermant un sixième d'oxyde de carbone. Mes expériences sont en complète contradiction avec cette affirmation du célèbre physiologiste. J'ai fait germer des graines de plantes, appartenant à des familles botaniques différentes : cresson alénois (crucifère), laitue (synanthérée), millet (graminée), dans des atmosphères artificielles, renfermant constamment 21 °/₀ d'oxygène, de l'azote, et jusqu'à 79 °/₀ d'oxyde de carbone. Dans les atmosphères les plus riches en gaz toxique, je ne constatai jamais qu'un léger retard dans la germination, retard qui devient insensible, lorsque la proportion de ce gaz s'abaisse au-dessous de 50 °/₀.

Dans cette première note, je supposai que, dans les expériences de Claude Bernard, l'oxyde de carbone incomplètement purifié avait introduit dans le mélange gazeux une certaine quantité d'acide carbonique, et que l'arrêt de la germination devait vraisemblablement être attribué à ce dernier gaz.

17. — **A propos de l'action de l'oxyde de carbone sur la germination.** (*Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1889.*)

Pour vérifier l'hypothèse émise à la fin de la note précédente, j'ai entrepris plusieurs séries d'expériences dans lesquelles je cherchai à déterminer à quelle dose l'acide carbonique provoque l'arrêt de la germination.

Les résultats peuvent se résumer ainsi : à faible dose l'acide carbonique produit sur la germination un retard qui devient très sensible, quand la proportion de ce gaz atteint 10 °/₀. A partir de ce chiffre, plus on élève la proportion de l'acide carbonique, plus est diminué le nombre des graines qui germent, mais l'arrêt complet ne se produit que pour de très fortes doses.

Les doses, qui entravent la germination, varient d'ail-

leurs avec l'espèce des graines en expérience. C'est ainei que, dane une atmosphère renfermant 36 °/₀ d'acide carbonique, la laitue a manifesté un commencement de germination, tandis que le cresson alénoie n'a pas germé du tout.

Une telle toxicité de l'acide carbonique étant insuffisante pour expliquer l'absence de toute germination dans les expériences de Claude Bernard; la diminution de tension de l'oxygène (qui résulte de l'addition de l'oxyde de carbone à l'air) l'étant ausei, de par les expériences de Paul Bert; une nouvelle eérie de germinations fut entreprise, dans lesquelles furent combinées les deux actions, c'est-à-dire que l'acide carbonique fut simplement ajouté à l'air, sans addition eimultanée d'oxygène, destinée à rétablir dans l'atmosphère artificielle la proportion normale de ce gaz. On constata que, dans de telles conditions, l'influence retardatrice de l'acide carbonique sur la germination s'accentue, mais ne devient pourtant pas suffieante pour expliquer l'absence absolue de germination dans l'expérience de Claude Bernard.

L'erreur du grand physiologiste reste donc momentanément inexpliquée.

18. — **Contribution à l'étude de l'intoxication oxycarbonée.** *(Comptes rendus de la Société de biologie, 1889).*

Les expériences célèbres de Claude Bernard l'ont conduit à attribuer la toxicité de l'oxyde de carbone exclusivement à l'action de ce gaz sur l'oxyhémoglobine et à l'anoxhémie qui en résulte. Cette interprétation du mécanisme de l'empoieonnement, ei elle rend compte de la mort par l'oxyde de carbone, ne permet guère d'expliquer les différences eymptomatologiques indéniables qui distinguent une intoxication oxycarbonée d'une aephyxie

banale. A quoi attribuer ces différences ? Il semble assez naturel de supposer qu'il y a, dans toute intoxication oxycarbonée, superposition de deux phénomènes, l'asphyxie, et une action propre exercée sur les centres nerveux par l'oxyde de carbone ou sa combinaison avec l'hémoglobine. On peut même *a priori* se demander si cette action propre n'est pas une action violente, comparable à celle de l'acide cyanhydrique. Dans ce cas, la fixation à l'état insoluble du gaz toxique sur les globules sanguins nous sauverait seule d'accidents graves, dans les multiples circonstances où nous sommes exposés à respirer l'oxyde de carbone.

Pour élucider cette question et mettre en évidence cette action toxique propre de l'oxyde de carbone, j'ai entrepris de nombreuses expériences que je résume ici brièvement.

1° *Expériences sur les grenouilles.* — Si l'oxyde de carbone n'est toxique que par son action anoxhémiante, une grenouille, plongée dans ce gaz, périra à peu près dans le même temps que si on la plonge dans un gaz inerte. Si, au contraire, l'oxyde de carbone possède en outre une action propre sur les centres nerveux, cette action ajoutera son effet aux phénomènes d'asphyxie, et la mort sera vraisemblablement hâtée.

C'est le résultat que j'ai obtenu d'une manière constante. Dans l'expérience la plus défavorable, les temps nécessaires pour amener la mort chez les grenouilles ont été moindre de deux heures dans l'oxyde de carbone, et supérieur à huit heures dans l'hydrogène.

Il est nécessaire de faire quelques réserves sur l'interprétation de ces expériences. On pourrait supposer que, dans l'hydrogène, les grenouilles ont pu vivre quelque temps aux dépens de la réserve d'oxygène contenu dans leur sang à l'état d'oxyhémoglobine, tandis que, dans l'oxyde de carbone, cette réserve même est éliminée. Mais

il ne faut pas croire que le sang puisse conserver longtemps, dans une atmosphère d'hydrogène, son oxygène combiné. L'oxyhémoglobine se dissocie dans les gaz inertes comme dans le vide ; chaque mouvement respiratoire produit sur le sang de la grenouille l'effet d'un coup de piston d'une machine pneumatique, et, après quelques instants, la quantité d'oxygène qui y est retenu doit être insignifiante.

Dans ces conditions, il semble bien difficile de ne pas attribuer la rapidité plus grande de la mort des grenouilles plongées dans l'oxyde de carbone, à une action toxique spéciale de ce gaz.

2° *Expériences sur les escargots.* — Si ces animaux, dont le sang ne renferme pas d'hémoglobine, subissent de la part de l'oxyde de carbone une action toxique, il faudra bien admettre que ce gaz possède une toxicité indépendante de son action sur l'hémoglobine. Claude Bernard n'a fait, dans ses *Leçons sur l'action des substances toxiques et médicamenteuses*, que peu d'allusions à l'action de l'oxyde de carbone sur les invertébrés. Il se contente de dire qu'il n'est pas toxique pour eux.

J'ai maintenu, dans des conditions qui sont décrites dans mon mémoire, des escargots dans des mélanges gazeux renfermant constamment, comme l'air atmosphérique, 21 °/₀ d'oxygène, mais dans lesquels l'azote était remplacé en totalité ou en partie par de l'oxyde de carbone ou de l'hydrogène.

Dans l'air, ou les mélanges d'oxygène et d'hydrogène, les escargots ont vécu soixante jours et plus. Dans les mélanges renfermant de l'oxyde de carbone, la mort s'est produite d'une manière constante entre quinze et vingt jours.

Ces expériences, soumises dans mon mémoire à une critique soigneuse, apportent donc un nouvel argument en faveur de mon hypothèse, mais elles prouvent en même

temps que l'action toxique propre de l'oxyde de carbone que je m'efforçais de mettre en évidence est assez faible, puisque les escargots ont pu vivre jusqu'à dix-neuf jours dans une atmosphère renfermant 79 0/0 de ce gaz.

Expériences sur les chiens. — La difficulté de ces dernières expériences était de dissocier en quelque sorte l'action anoxhémiante de l'oxyde de carbone et l'action toxique que je cherchais à mettre en évidence, d'annihiler l'une par un artifice opératoire, de telle sorte que la seconde fît seule sentir son influence, bref de soumettre les animaux à l'action de l'oxyde de carbone sans porter la moindre atteinte à l'intégralité de leurs globules. J'ai tenté d'y parvenir en injectant dans le système circulatoire des chiens de l'hémoglobine oxycarbonée.

On trouvera dans mon mémoire la description de ces expériences, qui furent faites avec la collaboration de M. Debierre. Les injections ne furent suivies d'aucun accident; mais il faut remarquer :

Que l'oxyde de carbone a été injecté à l'ètat d'hémoglobine oxycarbonée, combinaison très peu diffusible.

Que la quantité injectée n'a pu être portée au delà de 0 gr. 03, et n'eut produit d'effet sensible que si la toxicité de l'oxyde de carbone eût dépassé celle de l'acide cyanhydrique.

En résumé : Des expériences sur les grenouilles et les escargots, rapprochées de mes recherches antérieures sur la germination, il résulte :

1° Que l'oxyde de carbone possède sur les êtres vivants en général une action toxique propre, indépendante de son action anoxhémiante.

2° Que cette action est faible.

Mes expériences dans leur ensemble, et notamment mes expériences sur les chiens, permettent de supposer que,

dane l'intoxication des animaux supérieurs, cette action toxique e'efface devant l'action anoxhémiante. Il se pourrait toutefois, que, médiocre à l'égard d'un organisme sain, la toxicité propre de l'oxyde de carbone se montrât plus violente sur un organieme débilité par l'aephyxie.

19. — **A propos du suc gastrique.** (*Lyon médical, 1888.*)

M. le professeur Lépine avait fait, à propos de la recherche de l'acide chlorhydrique dans le suc gastrique, une remarque intéressante : certains suce gastriques, qui ne fournissent pas avec le réactif de Günsburg la réaction de l'acide chlorhydrique libre, ne la présentent pas non plue, quand on les additionne d'une faible quantité de cet acide. M. Lépine avait expliqué ce fait, par la présence dans le suc gastrique d'albumines et de peptones capables de masquer la réaction.

A côté de cette interprétation, très rationnelle, il en est une autre qui pourra être invoquée dans certains cas : J'ai eu l'occasion d'observer, chez un ataxique du eervice de M. le professeur Bondet, un suc gastrique neutre, qui préeentait très nettement le caractère signalé par M. Lépine ; mais, dans ce cas particulier, l'absence de coloration par le réactif de Günsburg, après acidulation franche du liquide par l'acide chlorhydrique, était attribuable à un lactate alcalin, dont la présence fut nettement établie. Tout autre sel organique, et même le phosphate disodique, euesent pu produire, en absorbant l'acide chlorhydrique libre, le même résultat.

La note ee termine par quelquee indications relativee à la recherche des lactatee alcalins et de l'acide chlorhydrique libre dans le suc gastrique.

20. — **Sur un nouvel appareil pour le dosage rapide de l'urée.** *(Société des Sciences médicales, 1889.)*

L'appareil que j'ai présenté à la Société des Sciences médicales est celui dont je me sers depuis plusieurs années. Il a l'avantage d'être d'une construction facile et de fournir, avec le maximum de simplicité dans le fonctionnement, des résultats identiques à ceux qu'on obtient avec les uréomètres les plus compliqués.

C'est un flacon de 150^{cc}, fermé par un bouchon de caoutchouc, traversé par un tube à robinet.

On y introduit environ 35^{cc} d'une solution d'hypobromite ds sodium, puis 2^{cc},5 d'urine, contenus dans un tube bouché à un bout, de manière qu'il ne puisse y avoir mélange des deux liquides. On bouche; on ferme le robinet; on renverse l'appareil, ce qui provoque le mélangs de l'urine et de l'hypobromite, et on agits. Dès que le dégagement gazeux est achevé, ce qui demande moins d'une minute, on ouvre le robinet au-dessus d'une éprouvette graduée. La pression de l'azote dégagé fait jaillir une certaine quantité de liquide. Le nombre de centimètres cubes de ce liquide recueillis dans l'éprouvette, exprime en grammes, par litre, la teneur de l'urine en urée.

Telle est l'opération dans sa plus grande simplicité, telle qu'on peut l'effectuer dans les recherches courantes de clinique. Le calcul des résultats est fondé sur les données fournies par Yvon : compte étant tenu de l'incomplète décomposition de l'urée par l'hypobromite, de la décomposition partielle de corps azotés autres que l'urée, des corrections moyennes de température et de pression, on admet qu'un centigramme d'urée, dans l'urine, dégage sensiblement 4^{cc} d'azote.

Moyennant quelques précautions, et, à la condition d'effectuer un dosage comparatif sur une solution titrée

d'urée, on peut rendre le procédé aussi exact que les meilleurs procédés fondés sur l'emploi de l'hypobromite de sodium ; mais il faut se rappeler que ce réactif ne permet en aucun cas d'obtenir une précision suffisante pour des recherches un peu délicates.

21. — **Recherches sur la morphologie et la biologie du champignon du muguet.** *(Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1889.)*

22. — **Sur la nutrition du champignon du muguet.** *(Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1890.)*

23. — **Sur la fermentation alcoolique et la transformation de l'alcool en aldéhyde provoquées par le champignon du muguet** (Extrait). *(Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1890.)*

24. — **Recherches morphologiques sur le champignon du muguet.** *(Archives de médecine expérimentale, 1890).*

25. — **Recherches biologiques sur le champignon du muguet.** *(Ibid, 1890.)*

26. — **Sur la fermentation alcoolique et la transformation de l'alcool en aldéhyde provoquées par le champignon du muguet** (mémoire complet). *(Bulletin de la Société chimique de Paris, 1890.)*

27. — **Mycose expérimentale due au champignon du muguet.** *(Lyon médical, 1889.)*

Mes recherches sur le champignon du muguet ont été poursuivies, en collaboration avec M. Gabriel Roux,

dans les laboratoires de chimie médicale de M. le professeur Glénard et de clinique médicale de M. le professeur Bondet. Dans le résumé qui va suivre, je passerai brièvement sur les recherches d'ordre morphologique, et insisterai seulement sur les faits nouveaux d'ordre chimique ou biologique.

I. — **Morphologie.** — On sait que le muguet se présente dans les cultures, soit sous la forme de cellules isolées ressemblant aux cellules de levure, soit sous la forme de filaments plus ou moins enchevêtrés toujours mélangés de formes levures. Nous l'avons étudié avec soin sous ces deux aspects, dans de nombreux milieux de culture ; nous avons de plus, dans des conditions très étroites de milieu nutritif, de température, etc., observé et décrit pour la première fois avec sa véritable signification une troisième forme *sporifère*.

Elle est caractérisée par l'apparition, à l'extrémité de certains filaments, de cellules très exactement arrondies, à protoplasma d'abord très finement granuleux et

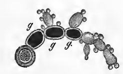


Fig. 1.

Chlamydospore jeune à l'extrémité d'une chaîne de cellules. Les cellules préterminales *g*, *g*, *g* sont gorgées de glycogène.

peu réfringent, se résolvant ensuite en grosses granulations, qui entourent comme d'une calotte sphérique un globule central hyalin (*Fig.* 1, 3, 4). La membrane d'enveloppe de cette cellule terminale s'épaissit considérablement et prend une consistance vitrée ; elle s'ouvre par

compression artificielle, en un point qui est toujours topographiquement le même, par une fente en V, à travers laquelle granulations et globule central peuvent s'échap-

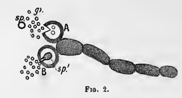


Fig. 2.

Deux chlamydospores terminales placées côte à côte dont on a provoqué la déhiscence par pression.

A. — Issue rapide du globule central *sp* et des granulations périphériques *gr*.

B. — Issue du globule central fixé dans sa forme par l'acide osmique et étranglé dans la fente.

per au dehors (*Fig.* 2). Au cours des processus chimiques très intéressants dont cette cellule est le siège, on voit apparaître, dans les articles filamenteux, qui la pré-

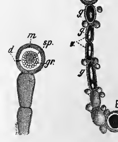


Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 3. — Chlamydospore plus avancée, à sa phase mûriforme ; *gr*, granulations périphériques ; *sp*, globule central ; *m*, membrane d'enveloppe très épaissie.

Fig. 4. — Chlamydospores à chacune des extrémités d'un filament ; en A phase mûriforme et cellules præterminales vacuolaires se vidant de leur glycogène *g*, *g*, *g* ; en B chlamydospore adulte, disparition des granulations périphériques.

cèdent immédiatement, du glycogène (*Fig.* 1), qui pénètre ensuite dans son intérieur, et disparait des articles préterminaux, lorsque les grosses granulations de la cellule terminale se résolvent à leur tour. Le globule central agrandi s'entoure alors d'une fine membrane d'enveloppe, et persiste seul au centre de la cellule-mère (*Fig.* 4 B). Celle-ci reste indéfiniment intacte dans les milieux où elle a pris naissance ; mais nous avons pu très nettement saisir sur le fait la germination du globule central, lorsqu'on le transporte sur des fraises ou sur des cerises crues mais flambées (*Fig.* 5). Cette forme durable du champignon du muguet a très probablement besoin pour germer dans la nature d'un habitat encore inconnu, de même qu'il doit exister un autre habitat sur lequel cette forme apparait et se développe.

Fig. 5
Fraise crue. — Chlamydospore germant.

La découverte de ces *chlamydospores*, l'absence maintes fois vérifiée par nous d'*ascospores* autorisent à rayer cet organisme du genre saccharomyces, et à réserver sa véritable place taxonomique. On verra plus loin que des considérations d'ordre chimique nous ont conduits à une conclusion identique.

II. — **Conditions de variabilité de la forme du muguet.** — Les quelques tentatives faites, avant nos recherches, pour rattacher les variations de forme du muguet aux conditions chimiques ou physiques de son développement, n'avaient mis en lumière que quelques faits particuliers, tels que l'influence de la température (Plaut) de l'état solide ou liquide du milieu (Plaut, Audry). Les lois générales, essentielles, de ces variations restaient inconnues. Nos expériences nous ont permis de les déterminer d'une manière assez certaine, pour pouvoir prédire à coup sûr quelle forme affectera le muguet dans un milieu

quelconque, de composition chimique définie, et dans des conditions physiques bien déterminées.

Les cultures sur milieux solides se prêtent mal à cette étude, parce que le muguet y présente une grande résistance à la filamentisation, résistance à laquelle M. Ch. Audry a eu le tort d'attribuer une importance trop exclusive. Les conclusions qui suivent résultent d'expériences de cultures dans des milieux liquides de composition chimique absolument définie :

L'étude de l'influence de l'aliment aux dépens duquel se développe le muguet, nous a conduits à une loi remarquable, qui — toutes autres actions perturbatrices étant momentanément écartées — peut s'exprimer ainsi :

Dans les cultures de muguet la complication de la forme croît avec le poids moléculaire de l'aliment.

En d'autre termes, plus la structure moléculaire de l'aliment se complique, plus le muguet a de la tendance à prendre la forme globulo-filamenteuse, plus les filaments deviennent longs et grêles.

C'est ce que démontrent les expériences suivantes :

Une solution de sels minéraux convenables est additionnée d'un aliment azoté simple, tel que du sulfate d'ammonium, puis répartie entre divers ballons. Dans chacun d'eux on ajoute un aliment hydrocarboné différent, on stérilise, on ensemence avec une trace de muguet, et, après quelques jours de séjour à l'étuve, on examine la récolte :

Si l'aliment hydrocarboné est l'alcool, la glycérine, le lactate de sodium, le glucose, la mannite, ou toute autre substance à poids moléculaire peu élevé, il ne se développe que des formes levures. *(Fig. 6).*

Fig. 6.

Si c'est le saccharose, il apparait des filaments courts

et trapus, quand la quantité de saccharose est faible (*fig.* 7), plus allongés quand elle est abondante (*fig.* 8).



Fig. 7. Fig. 8.

Si c'est la dextrine, la gomme arabique, les filaments deviennent plus grêles et enchevêtrés, et constituent parfois d'énormes bouquet auxquels sont appendues des formes levures. (*Fig.* 9).

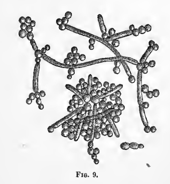


Fig. 9.

Cette même variation progressive de la forme se manifeste, quand on maintient constante, dans plusieurs milieux de culture, la nature de l'aliment hydrocarboné, en ne faisant varier que l'aliment azoté.

Ainsi, si, dans le liquide à base de glucose où l'on n'a observé que des formes levures, on substitue au sulfate d'ammonium, aliment très simple, de l'albumine, dont le poids moléculaire est très élevé, la forme globulo-filamenteuse se substitue à la forme levure (*fig.* 10); mais, comme le muguet est, avant tout, destructeur d'hydrocarbonés, il est bien plus sensible aux variations de poids moléculaire dans cet ordre d'aliments, qu'aux variations analogues dans ses aliments azotés.


Fig. 10.

Il importe, dans de telles expériences, de ne faire varier que la nature et non la quantité des aliments, car cette quantité même a une influence sur la forme, influence que nous avons mise en évidence pour le saccharose.

A côté de l'influence déterminante de l'aliment, nous avons signalé certaines conditions adjuvantes, incapables de provoquer par elles-mêmes la filamentisation, mais la facilitant beaucoup, dans les milieux dont la composition chimique est, par elle-même, favorable à cette filamentisation. Une des plus curieuses est celle des nitrates, qui ne sont pour le muguet ni un poison, ni un aliment, qui, ajoutés à un liquide à base de glucose, ne modifient pas l'aspect de la culture, mais, en présence du saccharose, provoquent le développement d'une forme filamenteuse très compliquée. Les substances toxiques provoquent l'apparition des filaments, même dans les milieux de culture qui ne renferment que des aliments simples. Il semble qu'en présence de substances nuisibles au végétal, tous les aliments deviennent compliqués pour lui.

Enfin toutes les cellules ne sont pas, au point de vue de leur aptitude à se développer sous telle ou telle forme, équivalentes. Ainsi, toute cellule qui, après une période

de souffrance, est transportée dans un liquide favorable à sa nutrition, manifeste une tendance remarquable, dans les premiers efforts de végétation, à prendre la forme globulo-filamenteuse. Il faut aussi faire entrer en ligne de compte l'accoutumance à certaine aliments. Du muguet, cultivé pendant plusieurs générations dans des milieux où il affecte la forme globulo-filamenteuse, prend beaucoup plus facilement cette forme, quand on le transporte dans des liquides nouveaux, que ne ferait du muguet cultivé parallèlement pendant le même temps dans des milieux où la simplicité des aliments l'a maintenu à l'état de levure. Il y a dans ce fait l'indication très nette d'une tendance à la formation de races différenciées. L'étude des races du muguet se poursuit et sera l'objet d'un mémoire ultérieur.

Nous terminons cette partie de notre travail en expliquant, d'après les lois établies par nous, les raisons pour lesquellee le muguet affecte telle ou telle forme sur lee divers milieux naturels.

III. — **Influence des acides et des alcalis eur le muguet.** — Cette influence a été étudiée avec une précision extrême, par la comparaison des poids des récoltes obtenues, dans des conditions absolument identiques, au sein de quantités égales d'un même liquide nutritif, dont la réaction seule variait.

On peut déduire de cette comparaison les conclueions suivantes :

1° L'acide sulfurique arrête complètement, quand sa proportion dépasse un centième de molécule par litre (0 gr. 98) l'évolution du muguet ; un deux centième de molécule (0 gr. 49) manifeste déjà une action retardatrice fort nette.

2° L'acide tartrique ne semble pas, dans la même proportion moléculaire (1/100 de molécule = 1 gr. 50) avoir

la moindre influence sur le développement du champignon. 3 à 12 gr. par litre diminuent la récolte dans la proportion de 12 à 18 °/ₒ. 24 grammes par litre ont même été insuffisants pour arrêter le développement, mais ont réduit la récolte au quart de sa valeur.

3° Au point de vue morphologique, une acidité faible n'a aucune influence sur la forme du muguet. Quand la dose s'élève, au point d'entraver notablement la végétation, les acides, comme toutes les substances toxiques, semblent provoquer la filamentisation.

4° Une proportion faible d'alcali (1 gr. par litre de carbonate de sodium) ajoutée à un bouillon de culture, augmente la récolte obtenue en douze à quinze jours de végétation dans la proportion de 50 à 70 °/ₒ.

5° Si on élève la proportion d'alcali, il se produit d'abord un certain retard dans la végétation. Mais, si l'on abandonne pendant quelque temps les cultures à elles-mêmes, par le fait des transformations chimiques qui accompagnent le développement du muguet, l'alcalinité du milieu est saturée en partie, et la récolte croît dès lors beaucoup plus vite que dans les liquides moins alcalins au début.

6° Au point de vue morphologique, une alcalinité modérée tend à maintenir dans les cultures la forme levure exclusive; une proportion d'alcali, assez forte pour entraver notablement la végétation, agit comme un corps toxique quelconque en provoquant la filamentisation.

Ces conclusions semblent de prime abord en contradiction avec les enseignements de la clinique. Les alcalis, et notamment les eaux minérales alcalines, passent en effet pour donner, dans le traitement du muguet, les meilleurs résultats ; mais la contradiction n'est qu'apparente et disparaît devant une étude attentive des phénomènes. En effet :

1° Nous avons dit qu'une alcalinité un peu forte a pour premier effet de ralentir la végétation du muguet,

jusqu'au moment où elle est en partie saturée par le fait même des réactions chimiquee qui accompagnent cette végétation. Si on empêche cette saturation par des additions répétées d'alcali — et c'est ce que l'on cherche à réaliser dans la bouche — on peut rendre permanent cet état initial de gêne.

2° Il est possible que l'alcalinité, tendant à ramener le muguet à la forme levure exclusive, le rende moins cohérent et plus facile à détacher de la muqueuse.

3° Enfin les alcalis ont sur le muguet une action indirecte des plus remarquables et des plus imprévues, que nos expériences ont mise en évidence de la manière la plus nette. C'est la suivante :

Le muguet ne peut se développer aux dépens de la salive, qui ne renferme guère, comme matière organique, que des substances de nature albuminoïde. Il doit donc trouver les matériaux de sa nutrition dans les aliments introduits dans la bouche. Or, chez l'enfant, le seul aliment est le lait, et le lait ne se prête pas à la culture du muguet. Mais il n'en est pas de même du lait qui a subi l'action de la salive. Nos expériences démontrent que le lait mélangé de salive devient un bon aliment pour le muguet ; mais s'il est additionné en même temps de carbonate de soude, celui-ci empêche l'action des diastases de la salive sur le lactose, et le muguet ne peut s'y développer.

Ce que je viens de dire du lactose peut s'appliquer à l'amidon qui est la base de l'alimentation hydrocarbonée chez l'adulte ; pas plus que le lactose, il n'est utilisable par le muguet, comme lui il le devient par l'action des diastases de la salive, mais les alcalis entravent cette action.

Le muguet, traité par les alcalis dans la bouche, meurt donc de faim, et non de l'action directe des alcalis.

En dehors de l'intérêt qu'offrent, au point de vue spécial de la théorie du traitement alcalin du muguet, les

expériences que je viens de rapporter, elles empruntent un intérêt plus général de la notion nouvelle qu'elles nous apportent du rôle dans l'organisme de certains antiseptiques.

Ce fait d'un composé chimique, qui favorise *in vitro* le développement d'un organisme inférieur, et l'entrave *in vivo*, n'est pas unique. C'est dans des actions latérales analogues à celles que nous venons de mettre en lumière pour le muguet, qu'il faudra, en pareil cas, chercher l'explication de ces phénomène paradoxaux.

IV. — **Nutrition du muguet.** — L'étude des conditions de nutrition d'un champignon inférieur est, aujourd'hui que la découverte du polymorphisme de ces êtres a quelque peu ébranlé les distinctions d'ordre purement morphologique, un moyen précieux d'établir son individualité spécifique. Les recherches entreprises dans cette voie, bien que peu nombreuses encore, nous ont appris déjà que chaque être a ses besoins alimentaires propres, recherche tel aliment que dédaigne une espèce voisine, et réciproquement. Chacun provoque en outre dans les substances, aux dépens desquelles il se développe, des transformations caractéristiques. C'est ainsi que les levures, que leurs formes ne permettent pas de distinguer les unes des autres, manifestent nettement leur différence spécifique par la différence de composition des alcools et des acides gras qu'elles fournissent.

Ces considérations expliquent pourquoi nous avons consacré à l'étude de la nutrition du champignon du muguet de nombreuses expériences.

Comme tous les êtres vivants, le muguet emprunte sa substance à trois ordres d'aliments : *minéraux*, *hydrocarbonés*, *azotés*. Nous les étudierons successivement.

A. — *Aliments minéraux.* — Nous avons institué toute une série d'expériences pour démontrer l'influence de l'oxygène sur le muguet. En l'absence de ce gaz, le champignon ne se développe pas et finit même par périr. Ses récoltes sont d'autant plus abondantes que l'accès de l'air y est plus large, et sont plus belles dans l'oxygène que dans l'air.

Au point de vue des aliments minéraux solides du muguet, nous avons constaté qu'il se développe bien dans un liquide renfermant par litre :

Eau	1,000
Phosphate de potassium .	0,75
Sulfate de magnésium. .	0,05
Sulfate de fer.	0,02
Sulfate de zinc	0,02
Silicate de sodium . . .	trace.

Le tout additionné d'un aliment hydrocarboné et d'un aliment azoté convenables. L'addition à ce liquide d'autres substances minérales ne semble pas augmenter le poids des récoltes.

B. — *Aliments hydrocarbonés.* — Nous avons cultivé du muguet dans d'égales quantités de liquides, renfermant, avec les substances minérales ci-dessus énumérées, du sulfate d'ammonium et un aliment hydrocarboné variable. Nos recherches ont porté sur 29 composés chimiques définis, dont la valeur nutritive peut être exprimée par les poids suivants des récoltes obtenues dans des temps égaux :

NUMÉROS D'ORDRE.	NATURE DE L'ALIMENT HYDROCARBONÉ.	POIDS DES RÉCOLTES.		RAPPORTS CENTÉSIMAUX.	
		EXPÉRIENCE I	EXPÉRIENCE II	EXPÉRIENCE I	EXPÉRIENCE II
		Grammes.	Grammes.		
1	Peptone..............	....	0.068	....	154
2	Glucose...	0,046	0,044	100	100
3	Saccharose..........	0,036	0,0325	78	74
4	Dextrine.............	0,032	0,0305	70	69
5	Mannite........	0,031	0,030	63	68
6	Alcool...............	0,0165	0,014	36	32
7	Lactate de sodium....	0,017	0,010	37	23
8	Acide lactique	0,012	0,0005	27	1
9	Gomme arabique.....	0,007	0,0075	15	17
10	Albumine.............	Impondérable.	0,004	?	9
11	Glycérine.	»	0,002	?	4,5
12	Acide tartrique.......	Développement très faible.			
13	Tartrate alcalin.......				
14	Amidon..............	Développement insensible.			
15	Lactose..............	»			
16	Erythrite.............	»			
17	Aldéhyde............	»			
18	Acétone..............	»			
19	Acide acétique........	»			
20	Acétate de sodium.....	»			
21	Acide oxalique........	»			
22	Oxalate de potassium.	»			
23-29	Composés aromatiques	»			

Les substances désignées dans le tableau sous la désignation générale « composés aromatiques » sont le phénol, la résorcine, l'hydroquinone, la pyrocatéchine, le pyrogallol, la phloroglucine, l'orcine, l'acide gallique. L'expérience II diffère de l'expérience I en ce que les proportions de tous les aliments hydrocarbonés y furent doublées.

Mettant de côté la peptone, qui est à la fois un aliment azoté et hydrocarboné, on voit que c'est dans la famille des hydrates de carbone que le muguet trouve ses meilleurs aliments, et qu'ils semblent d'autant meilleurs que leur poids moléculaire est moins élevé.

J'attire l'attention sur la remarquable concordance des deux expériences I et II. Non seulement les classe-

ments des aliments, d'après les poids de récolte, sont identiques, mais les rapports des poids de chaque récolte au poids de la récolte dans le glucose sont, dans les deux expériences, exprimés par des nombres très voisins. Cette concordance est une preuve précieuse de la valeur de notre méthode expérimentale.

Une seule exception est à signaler à propos de l'acide lactique ; elle est facile à comprendre. Dans l'expérience I le liquide renfermait 0,9 °/₀ de cet acide, et dans l'expérience II 1,8. L'excès d'acidité est devenu un obstacle au développement.

G. — *Aliments azotés.* — La valeur des divers aliments azotés du muguet a été appréciée de même par la comparaison des poids des récoltes obtenues dans d'égales quantités de liquides, renfermant, avec les subtances minérales ci-dessus, du saccharose et un aliment azoté variable. Le tableau suivant résume les résultats de ces expériences.

NUMÉROS D'ORDRE.	NATURE DE L'ALIMENT AZOTÉ.	POIDS DES RÉCOLTES.	RAPPORTS CENTÉSIMAUX.
		Grammes.	
1	Peptone	0,057	228
2	Leucine	0,028	112
3	Tartrate d'ammonium	0,025	100
4	Sulfate d'ammonium	0,023	92
5	Glycocolle	0,022	88
6	Tyrosine	0,021	84
7	Asparagine	0,021	84
8	Urée	0,013	52
9	Acétamide	0,012	48
10	Gélatine	0,006	24
11	Albumine	0,004	16
12	Chlorhydrate d'aniline	0,002	8
13	Azotate de sodium	0,0005	2
14	Pas d'azote	0,0005	2

On voit qu'il est possible de classer d'après leur valeur nutritive les aliments azotés du muguet en un cer-

tain nombre de groupes, qu'il est curieux de voir constitués par des substances chimiquement analogues.

Les peptones doivent être mises hors de pair. Elles constituent l'aliment azoté par excellence du muguet.

Les sels ammoniacaux n'ont qu'une valeur bien moindre.

A quelque distance au-dessous, les acides amidés (glycocolle, tyrosine, asparagine) forment un groupe d'aliments de valeur à peu près équivalente. On est surpris de voir s'en détacher la leucine, qui, dans plusieurs expériences, s'est montrée constamment supérieure aux sels ammoniacaux eux-mêmes.

Les amides neutres (urée, acétamide) constituent un autre groupe naturel de qualité alimentaire plus médiocre. Les matières albuminoïdes (gélatine, albumine) ne fournissent que des récoltes minimes. Le chlorhydrate d'aniline, choisi comme un type des aliments azotés aromatiques, est à peu près inutilisable. Enfin les nitrates, qui sont pour certains végétaux un aliment supérieur aux sels ammoniacaux, ne sont nullement nutritifs pour le muguet.

Il ressort nettement de cette étude que les besoins alimentaires du muguet ne se confondent pas avec ceux de la levure de bière dont on a voulu le rapprocher.

Ainsi le muguet utilise l'alcool qui ne nourrit pas la levure, tandis qu'il ne se développe pas aux dépens de l'érythrite que la levure peut assimiler. Le muguet se distingue aussi nettement des moisissures, dont Duclaux a fait à ce point de vue une étude intéressante. Il n'assimile en effet ni l'acide acétique, ni les nitrates que l'*aspergillus niger* utilise fort bien.

V. — **Fermentations provoquées par le muguet.** — Le muguet est-il un ferment alcoolique ? Au moment où nous avons entrepris nos expériences, il n'existait à ce

sujet dans la science aucune donnée précise, et nous n'avons pu enregistrer que des affirmations contradictoires, sans expériences démonstratives à l'appui.

La question est aujourd'hui définitivement résolue : le muguet fait subir la fermentation alcoolique au glucose, au lévulose, au maltose ; il se développe aux dépens du saccharose sans le faire fermenter ni l'intervertir ; il est sans action sur le lactose. Dans un mélange de glucose et de lévulose, il s'attaque dès le début de la fermentation aux deux sucres, mais détruit le premier en quantité plus grande. Le degré alcoolique maximum des liquides fermentés sous l'influence du muguet a été dans nos expériences 5,5.

Les produits accessoires de la fermentation sont, outre la glycérine et l'acide succinique, de l'acide acétique (jusqu'à 1/7e du poids de l'alcool), un peu d'acide butyrique. (Au maximum 1/17e de l'acide acétique) et une notable quantité d'aldéhyde.

La plus grande portion de l'aldéhyde et de l'acide acétique provient d'une oxydation ultérieure de l'alcool préformé. Nous avons pu provoquer en effet cette oxydation sous l'influence du muguet ; mais nous sommes disposés à croire que le champignon ne pousse la transformation de l'alcool que jusqu'au terme aldéhyde, et que la formation de l'acide acétique aux dépens de cette dernière substance est exclusivement attribuable à l'action de l'air, sans intervention d'un phénomène biologique. Ce qui rend vraisemblable cette interprétation, c'est que l'aldéhyde est inutilisable pour le muguet et ne peut lui servir d'aliment.

Cette propriété de transformer l'alcool en aldéhyde n'avait été, avant nos recherches, signalée chez aucun organisme inférieur. On a constaté, il est vrai, la présence de ce dernier corps dans le vinaigre, mais sa proportion y est toujours minime. Au contraire, dans l'action du muguet sur l'alcool, l'aldéhyde est à coup sûr le terme principal, et peut être le terme définitif de l'oxydation.

L'étude de l'influence de la réaction du liquide fermentescible sur la marche de la fermentation nous a conduits à cette conclusion, que l'alcalinité exalte les propriétés végétatives, et l'acidité les propriétés de ferment du champignon du muguet.

La constatation du rôle de ferment alcoolique du muguet semble au premier abord fournir un argument aux auteurs qui le rangent parmi les *saccharomyces*. L'étude attentive de la fermentation nous impose une conclusion tout opposée :

Par le degré alcoolique maximum du liquide fermenté, par la lenteur de la fermentation, par le rapport du poids de l'alcool formé au poids du sucre détruit (0,38 au lieu de 0,50), par le rapport du poids du sucre détruit au poids du végétal développé (16 et 19 au lieu de 34 dans des conditions aussi identiques que possible), par son incapacité à intervertir et à faire fermenter le saccharose, enfin par ses propriétés oxydantes à l'égard de l'alcool, le muguet s'éloigne des levures usuelles, et se rapproche des divers *mucors* capables de provoquer la fermentation alcoolique.

Ce n'est pas un des points les moins remarquables de notre travail, que cette confirmation, fournie aux conclusions de nos études morphologiques par l'étude attentive des phénomènes chimiques dont s'accompagne la végétation du muguet.

VI. — **Mycose expérimentale due au muguet.** — En injectant dans la veine auriculaire d'un lapin, une culture pure de muguet, nous avons provoqué chez l'animal une maladie rapidement mortelle, caractérisée par de l'abattement, de l'inappétence, de l'anurio, et des troubles de l'équilibre, c'est-à-dire par tous les symptômes décrits dans l'*aspergillose*.

A l'autopsie, la substance corticale des reins se mon-

tre criblée de granulations blanches, ressemblant à des tubercules miliaires. Il en est de même du myocarde, où les granulations sont toutefois plus petites et moins abondantes ; dans la rate, le foie, les parotides, elles sont très rares. Les poumons en renferment à peine deux ou trois ; les centres nerveux semblent absolument sains. On trouve dans le sang des cellules de muguet encore vivantes et capables de se développer quand on les transporte dans un milieu nutritif convenable ; mais l'urine n'en renferme point. On ne put, malgré une recherche méticuleuse, retrouver le champignon dans l'oreille interne. (Je rappelle que Lichtheim avait attribué les troubles de déséquilibration dans l'aspergillose à la localisation du champignon dans le labyrinthe).

Examinés au microscope, les tubercules sont exclusivement constitués par le muguet sous sa forme globulo filamenteuse *(fig. 11)*. Quand la mort se fait attendre, les filaments enchevêtrés ont perdu toute vitalité et semblent privés de leur protoplasma.

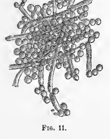


Fig. 11.

Certains faits cliniques donnent de l'intérêt à ces résultats, analogues à ceux qu'a obtenus Klemperer : Zenker et Ribbert ont observé des abcès miliaires du cerveau causés par le champignon du muguet, et d'Espine et Picot citent les noms d'un certain nombre d'auteurs qui auraient constaté l'infection par la voie sanguine ou lymphatique.

Cette double série de faits démontre que le muguet peut, exceptionnellement, être plus dangereux qu'on ne le croit d'habitude ; il serait intéressant, dans les autopsies de sujets morts avec le muguet, d'examiner avec grand soin les différents organes, et notamment les reins.

28. — **Nouveau procédé de dosage de l'oxygène dissous dans l'eau.** (*Bulletin de la Société chimique de Paris, 1891.*)

Le principe de ce procédé est le suivant : L'oxygène est absorbé par du tartrate ferreux en solution alcaline ajouté goutte à goutte à l'eau examinée, colorée avec un peu de phénosafranine. Dès que l'oxygène libre a complètement disparu, la première goutte de sel ferreux ajoutée en excès provoque la décoloration du liquide. La solution alcaline de tartrate ferreux se produit au cours même de l'opération par l'écoulement d'une solution de sulfate ferreux dans l'eau additionnée de sel de seignette et de soude caustique.

Le dosage se fait à l'abri de l'air, dans un appareil très simple, que je décris dans ma note, et qui constitue une sorte de baromètre tronqué. L'opération est rapide et très exacte. Les nitrates et les nitrites, qui exercent sur la plupart des procédés de dosage de l'oxygène dissous une influence fâcheuse, ne troublent en rien l'analyse. Parmi les matières organiques, seules celles qui, comme le glucose, possèdent une action réductrice énergique, sont un obstacle au dosage; mais on a pu ajouter à l'eau analysée de l'urine, de l'albumine, une infusion de terre végétale, sans modifier en rien les résultats.

J'ajoute que l'appareil, que je décris dans cette note, se prête très bien au dosage de l'oxygène dissous par le procédé de Schützenberger, dont il permet de simplifier notablement les manipulations, et est, en général, très commode pour réaliser tous les dosages ou réactions qui doivent être effectués à l'abri de l'air.

29. — **Sur une hématine végétale, l'aspergilline, pigment des spores de l'Aspergillus niger.** *(Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1891).*

Le pigment noir, auquel l'*Aspergillus niger* doit son nom, peut être extrait en assez grande quantité des spores de cette moisissure, par une digestion prolongée avec de l'eau légèrement ammoniacale. En ajoutant à la dissolution, fortement colorée, un faible excès d'acide chlorhydrique, on précipite intégralement la matière colorante en flocons amorphes, volumineux.

Ce qui donne un intérêt tout particulier à l'étude de cette substance, pour laquelle je propose le nom d'*aspergilline,* c'est sa remarquable analogie avec le pigment le plus important des vertébrés, l'hématine du sang.

C'est une poudre noire, à peu près insoluble dans l'eau, l'acool, et les dissolvants neutres en général, mais très soluble dans les alcalis en solution aqueuse ou alcoolique, moins facilement dans l'alcool acidulé d'acide acétique. Ses solutions ammoniacales sont précipitées par l'eau de baryte comme les solutions ammoniacales d'oxyhématine. Ses solutions acides sont brunes, vertes en couche mince; ses solutions alcalines sont d'un brun rouge. L'intensité de la coloration est suffisante pour qu'une solution à un millionième présente, sous une épaisseur de $0^m,10$, une teinte sensible. Une étude attentive du spectre de l'aspergilline a été faite à l'aide du spectrophotomètre de Gouy.

Au contact de l'air, l'aspergilline brûle à haute température, en répandant une odeur de corne brûlée, et en laissant, comme l'hématine, un résidu rouge d'oxyde ferrique.

Les dissolutions d'aspergilline ne semblent pas altérées par la lumière solaire; elles sont réduites par l'hydrosulfite de sodium; le produit de la réduction exposé à l'air

en absorbe très énergiquement l'oxygène, et la dissolution, qui, sous l'influence de l'hydrosulfite, avait viré au jaune d'or, reprend très rapidement la teinte brune de l'aspergilline.

Cette réduction ne peut être réalisée, non plus que pour l'oxyhématine, ni par le vide, ni par la putréfaction.

Ces constatations sont importantes à plus d'un titre :

1° Il est intéressant de trouver dans une moisissure une substance aussi complètement analogue à l'hématine du sang que l'est l'aspergilline ; car, quelques différences que puisse dévoiler, entre les deux pigments, une étude chimique plus approfondie, il n'en subsistera pas moins entre eux des ressemblances frappantes : analogie entre les caractères physiques ; présence dans les deux molécules d'une quantité notable d'un même métal, le fer ; enfin propriété commune de fournir par l'action d'un réducteur énergique, mais non par le vide ni la putréfaction, un produit de réduction oxydable au contact de l'air, et régénérant, par suite de cette oxydation, la substance primitive. Ce sont là des ressemblances suffisantes pour justifier le nom d'*hématine végétale* que j'ai donné à l'aspergilline dans le titre de mon mémoire.

2° Il est vraisemblable que l'analogie de propriétés doit être corrélative d'une analogie de fonctions : les caractères que j'ai mis en lumière dans l'aspergilline, et notamment la propriété de fixer l'oxygène de l'air pour le céder aux substances réductrices, autorisent à lui supposer, dans l'organisme végétal, une fonction respiratoire. Cette déduction, même avec les réserves dont je suis encore obligé de l'accompagner, a d'autant plus d'importance que nos connaissances sur le rôle des pigments dans les champignons inférieurs sont à peu près nulles.

3° M. Raulin, dans son remarquable travail sur l'*Aspergillus niger*, avait constaté que la suppression du fer dans le liquide nutritif dont il a donné la formule, non

seulement diminue le poids de la récolte, mais, contrairement à ce qui se passe, quand on retranche du milieu nutritif un autre élément utile à la plante, apporte un obstacle à la formation des spores.

J'apporte l'interprétation de ce fait : c'est que, en l'absence du fer qui entre dans sa constitution, le pigment des spores ne peut se former.

30. — **Sur une hématine végétale l'aspergilline,** 2ᵉ note. *(Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1891.)*

A la suite de la publication du travail précédent, M. Phipson, de Londres, rappela *(Comptes rendus 1891)* qu'il avait décrit en 1879 sous le nom de palmelline un pigment de l'algue *palmella cruenta*, et supposa que l'aspergilline décrite par moi pouvait bien être identique avec cette palmelline. Dans cette nouvelle note, je fais ressortir les différences qui existent entre les deux pigments.

La palmelline est rouge rose, paraissant cristallisée au microscope, soluble dans l'eau. Sa solution, d'un rouge rose magnifique par transmission, jaune orangé par réflexion se coagule par la chaleur, par l'alcool, l'ammoniaque et la potasse, mais non par l'acide chlorhydrique. Brûlée, elle laisse, comme les tissus végétaux en général, des cendres complexes, dans lesquelles on reconnait aisément de la chaux, du chlore et du fer. L'auteur ne fait allusion à aucune action particulière sous l'influence des agents réducteurs.

L'aspergilline et l'hématine sont noires, amorphes, insolubles dans l'eau. L'ammoniaque et la potasse les dissolvent, et les dissolutions, qui sont brunes, ne sont précipitées, ni par la chaleur, ni par l'alcool ; elles sont au contraire précipitées par l'acide chlorhydrique. Brûlées, elles laissent des cendres constituées par de l'oxyde de fer. Elles sont réduites par l'hydrosulfite de sodium, et le produit de la réduction absorbe énergiquement l'oxygène libre.

Il ressort de ce parallèle que la palmelline de M. Phipson, bien loin d'être identique avec l'aspergilline, ne présente avec cette substance, pas plus qu'avec l'hématine du sang, aucune analogie.

Je poursuis en ce moment l'étude du pigment que j'ai isolé, au double point de vue chimique et physiologique. Il est probable que l'aspergilline, si elle est la première hématine végétale découverte, n'est pas la seule qui existe, et que des substances analogues viendront se grouper auprès d'elle. M. le docteur Greshoff m'adresse du jardin botanique de Buitenzorg (Ile de Java), par l'intermédiaire de M. le professeur Chauveau, un polypore dont il croit le pigment analogue à l'*aspergilline*. J'ai constaté moi-même que le pigment dont s'imprègnent, dans les cultures artificielles, les spores de Mildiou a aussi quelque ressemblance avec cette substance.

31. — **Action de l'acide sulfureux sur quelques champignons inférieurs et en particulier sur les levures alcooliques.** (*Annales de l'Institut Pasteur 1891.*)

La pratique du mutage des vins, l'emploi de l'acide sulfureux pour la conservation des liquides fermentescibles, son usage comme antiseptique, donnent de l'intérêt à l'etude de l'action toxique de ce gaz sur les organismes inférieurs. On ne possède toutefois sur ce sujet, en dépit de nombreux travaux, que des notions assez confuses. J'ai cherché à combler, dans une certaine mesure, cette lacune, en déterminant la toxicité de l'acide sulfureux dissous à l'égard des levures alcooliques, et de quelques autres champignons inférieurs.

Mes expériences ont porté sur onze organismes, une levure de bière basse, une levure recueillie sur des raisins blancs, une levure trouvée à la surface de raisins de Co-

rinthe, trois levures différentes extraites d'une fermentation spontanée de moût de fraises, la mycolevure de Duclaux, deux variétés de *mycoderma vini*, le champignon du muguet, l'*aspergillus niger*.

Les conclusions suivantes se dégagent de l'ensemble des expériences :

1° Une solution, renfermant un cinquième de son volume d'acide sulfureux, a détruit tous les champignons abandonnés à son contact pendant un quart d'heure, sauf le muguet, pour la destruction du quel la dose d'acide sulfureux a dû être portée à 500^{cc} par litre.

2° Si le contact est prolongé six heures, aucun champignon ne résiste à une solution renfermant un dixième de son volume, soit 100^{cc} d'acide sulfureux par litre.

3° Si l'action s'exerce pendant vingt-quatre heures, la dose toxique s'abaisse à un vingt cinquième du volume, soit 40^{cc} par litre, sauf pour une des variétés de *mycoderma vini*, qui, dans une expérience sur trois, exigea pour sa destruction 100^{cc} par litre.

4° Enfin, si l'expérience est prolongée plusieurs jours, 20^{cc} par litre, soit un cinquantième de volume, suffisent pour détruire tous les champignons, sauf ce même *mycoderma vini*.

Ces doses témoignent d'une action énergique de l'acide sulfureux : il suffit de les exprimer en poids pour constater qu'elles sont comparables, et parfois inférieures aux doses actives des plus puissants antiseptiques. Ce sont : 1 gr. 35 par litre (1/750) si la durée du contact n'est que de quinze minutes ; 0 gr. 27 (1/3700) si la durée en est d'une heure ; 0 gr. 108 (1/9000) s'il est prolongé vingt-quatre heures, et enfin 0 gr. 054 (1/18000) si l'action toxique s'exerce pendant plusieurs jours.

La toxicité de l'acide sulfureux est exaltée par une élévation modérée de température, et surtout par la présence d'un acide minéral. C'est ainsi qu'une levure de

raisins et le champignon du muguet ont été tués en six et vingt-quatre heures par un quatre-vingt-dix millième et un cent quatre-vingt millième d'acide sulfureux, en présence d'une quantité d'acide sulfurique, qu'une expérience préalable avait démontrée incapable d'entraver le développement des deux organismes.

32. — **Sur le dédoublement de l'acide lactique inactif par les moisissures.** *(Bulletin de la Société chimique de Paris, 1891.)*

On sait depuis longtemps qu'il existe, outre l'acide lactique ordinaire de fermentation, sans action sur la lumière polarisée, un acide lactique droit (acide paralactique), que l'on peut retirer des muscles et du produit de certaines fermentations. M. Schardinger (*Monatschefte für chemie*, t. XI, p. 545) a récemment obtenu, dans la fermentation du sucre sous l'influence d'un bacille analogue au ferment lactique, un acide lactique gauche. Le mélange des deux acides fournit un acide inactif par compensation ; mais cet acide inactif est-il l'acide inactif de fermentation ou un isomère ? La question ne peut être résolue dans le premier sens que par la décomposition de l'acide de fermentation en ses isomères actifs. En 1883, M. Lewkowitsch avait constaté qu'une solution nutritive de lactate d'ammonium, laissée plusieurs semaines au contact de *penicillium glaucum*, était devenue au bout de ce temps nettement dextrogyre, mais cette expérience ne constituait pas une démonstration suffisante de la possibilité de dédoubler l'acide lactique en deux isomères actifs.

On ne peut en effet admettre a *priori*, que l'activité optique, qui se manifeste au cours du développement d'une moisissure, dans son liquide nourricier, est nécessairement due à une fraction inutilisée de l'aliment aux dépens duquel elle se développe. Il est bien connu que les micro-organismes

élaborent dans leur protoplasma des substances actives aux dépens des aliments les plus divers, et que ces substances actives peuvent se diffuser dans les bouillons de culture. Il est donc indispensable, avant d'émettre une conclusion sur la cause de l'activité optique du liquide dans lequel a végété un organisme inférieur, d'extraire la substance active, ou du moins de la caractériser par l'ensemble de ses réactions.

C'est ce que j'avais tenté de faire, avant d'avoir eu connaissance de l'important travail de Schardinger : j'ai cultivé sur une solution nutritive de lactate d'ammonium du *penicillium glaucum*, et j'ai pu ajouter à l'observation première de Lewkowitsch les constatations suivantes :

1° Le corps actif qui se forme dans une telle expérience, est extractible par l'éther de sa dissolution préalablement acidulée.

2° Il est dextrogyre, et, en se combinant à l'oxyde de zinc, fournit un sel lévogyre. Le rapport des pouvoirs rotatoires de l'acide libre et de sa combinaison zincique, est le même que celui des pouvoirs rotatoires de l'acide paralactique et de son sel de zinc.

Il résulte de ces faits que l'acide lactique de fermentation est en réalité dédoublable par les moisissures en deux isomères actifs, dont l'un (le gauche) est utilisé en plus grande proportion pour la nutrition de la moisissure, tandis que l'autre (le droit), reste en excès dans le liquide. Je n'ai pu, malheureusement, compléter la démonstration par l'extraction de l'acide lactique droit à l'état pur, la quantité obtenue étant insuffisante pour cette extraction. J'ai entrepris pour obtenir ce résultat de nouvelles expériences.

Un fait intéressant ressort encore de ces recherches, c'est que, la moisissure, dans son état normal, attaque avec la même énergie les deux modifications optiquement actives de l'acide lactique; ce n'est que quand sa vitalité est affaiblie, qu'elle manifeste des préférences et détruit avec plus d'activité la modification gauche.

33. — **Nouveau procédé de dosage de l'acide formique.** *(Bulletin de la Société chimique de Paris, 1891.)* (A paraitre).

Le dosage de l'acide formique dans un mélange d'acides gras volatils est une opération difficile. Le procédé de Portes et Ruyssen fournit, de l'aveu des auteurs, des résultats trop faibles de 25 °/₀ ! Ayant besoin, dans mes études sur les fermentations, d'une méthode de dosage plus exacte, j'ai eu recours à la propriété de l'acide formique d'être décomposé par l'acide sulfurique concentré avec dégagement d'oxyde de carbone : les acides acétique, propionique, butyrique, valérianique n'en fournissent pas trace dans les mêmes conditions, si l'on a soin d'éviter une élévation trop grande de température. Pour obtenir la maximum de précision, on pourrait effectuer la décomposition du formiate par l'acide sulfurique dans le vide de la machine pneumatique à mercure, mais il est plus simple d'opérer dans un courant de gaz acide carbonique, et de recueillir les gaz dans un appareil de Dupré pour le dosage de l'azote. Je ne puis insister ici sur les détails de l'opération : le gaz renfermé dans l'appareil, après l'absorption de l'acide carbonique, est de l'oxyde de carbone mélangé d'une faible quantité d'air. Pour tenir compte de ce dernier, on absorbe d'abord l'oxygène dans l'appareil de Dupré lui-même, en y introduisant du pyrogallol, puis le mélange d'azote et d'oxyde de carbone est recueilli dans une éprouvette graduée, et ce dernier gaz absorbé par le protochlorure de cuivre en solution chlorhydrique.

En opérant sur 0 gr. 05 environ d'acide formique, j'ai obtenu constamment de 95 à 97 °/₀ de l'oxyde de carbone théorique, soit en moyenne 96 °/₀. En ajoutant 4 °/₀ au résultat fourni par l'expérience, je puis donc compter que l'erreur maximum ne dépassera pas 1 °/₀.

34. — **Sur l'analyse d'un mélange d'acides gras volatils.** *(Bulletin de la Société chimique de Paris, 1891.)* (A paraître.)

L'analyse d'un mélange d'acides gras volatils est toujours délicate. Dans les recherches de chimie biologique, la difficulté s'accroît encore par suite des faibles quantités de ces acides sur lesquelles porte l'analyse. M. Duclaux a résolu d'une manière très élégante cette difficulté en déterminant et dosant à la fois les différents acides par la marche de la distillation de leurs solutions aqueuses diluées. Cette marche est caractéristique pour chaque acide, et, dans un mélange, chacun des acides distille comme s'il était seul. En distillant 100^{cc} de liquide de manière à recueillir séparément chaque fraction de 10^{cc} et en faisant par l'acidimétrie le dosage de l'acide recueilli dans chaque fraction, on peut établir une série d'équations à plusieurs inconnues qui, théoriquement, permettent de caractériser et de doser dix acides mélangés.

Malheureusement, dans la pratique, on ne peut guère analyser ainsi qu'un mélange de deux acides. Si la dissolution en renferme trois, on peut tenter d'en arrêter un par saturation partielle du mélange ; mais, dans cette saturation partielle, la base se partage toujours entre les divers acides et, quelle que soit la différence de leurs chaleurs de saturation, aucun n'est complètement arrêté. J'ai constaté, par exemple, que, dans le cours d'une distillation d'acide acétique dilué en présence de sulfate de sodium, il passe toujours un peu d'acide sulfurique dans le récipient. On ne peut donc espérer aucun résultat exact de cette manière d'opérer.

Après bien des essais, je suis arrivé à analyser très exactement un mélange de trois acides gras volatils, à condition que l'un d'eux fût l'acide formique. (C'était le

cas dans les liquides fermentés sous l'influence du Vibrion septique.) Dans ce but, l'acide formique était préalablement dosé, comme il a été dit dans la note précédente ; puis le mélange des trois acides était soumis à la distillation fractionnée. Mais, dans chaque équation, l'inconnue correspondant à l'acide formique était remplacée par un nombre, calculé d'après le dosage préalable de cet acide et la marche connue de sa distillation. Les équations à deux inconnues qui résultaient de cette substitution, résolues, indiquaient exactement la quantité et la nature de chacun des deux acides autres que l'acide formique contenus dans le mélange.

Voici les résultats obtenus avec un mélange titré d'acides formique, acétique et butyrique :

Acide formique . . .	1,74 ‰	au lieu de	1,81
— acétique . . .	1,61	—	1,61
— butyrique . .	3,56	—	3,42

On ne peut guère, dans des expériences aussi délicates, espérer une exactitude plus grande.

35. — **Recherches sur le vibrion septique.**

Ces recherches, entreprises depuis plus d'un an, n'ont été encore l'objet que de communications partielles à la Société des sciences médicales et à la Société des sciences industrielles de Lyon. Quelques-uns des résultats obtenus ont été exposés dans son cours par M. le professeur Arloing.

On sait que le vibrion septique de Pasteur provoque, dans le tissu cellulaire des animaux, auxquels il est inoculé, de véritables fermentations accompagnées de dégagements gazeux. M. Arloing a constaté en outre que le microbe de la septicémie gangréneuse de l'homme, as-

similé par MM. Chauveau et Arloing au vibrion septique, peut faire fermenter *in vitro* divers hydrates de carbone et substances albuminoïdes. J'ai entrepris, sur le conseil de M. Duclaux, l'étude de ces fermentations.

Le caractère exclusivement anaërobie du vibrion septique, et la nécessité de recueillir les gaz, rendent nécessaire, pour une telle étude, l'emploi d'appareils spéciaux qu'il serait trop long de décrire ici. Qu'il me suffise de dire que la substance fermentescible est constamment dissoute dans du bouillon de cheval, qui, de tous les liquides, s'est montré le plus favorable au développement du microbe. (Je n'ai jamais pu obtenir de fermentation dans les solutions végétales les plus diverses : infusions neutralisées de foin, de touraillon, de malt, de pruneaux, de raves, moût de vin et de bière, etc.) Un peu de carbonate de chaux précipité, ajouté au mélange, est destiné à absorber au fur et à mesure de leur formation les produits acides de la fermentation. L'appareil est exactement privé d'air, ensemencé, et porté à l'étuve à 39°. La semence est généralement une goutte de sang recueillie dans le cœur d'un cobaye, au moment où il vient de succomber à la septicémie.

C'est surtout sur la fermentation du glucose qu'ont porté jusqu'à ce jour mes recherches : après une première période, pendant laquelle elle se montre assez active, elle devient d'une lenteur désespérante. Après six mois et plus, il reste encore dans le liquide du sucre non transformé. Il se dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène, et l'analyse du résidu permet d'y déceler la présence des alcools éthylique et butylique normal, des acides formique, acétique, butyrique et paralactique, et des traces d'acide succinique.

Ce qui rend cette étude à la fois attrayante et difficile, c'est la variabilité des produits de la fermentation : tantôt, au lieu d'un mélange d'acide carbonique et d'hy-

drogène, de l'acide carbonique seul se dégage; l'acide paralactique semble, dans certains cas, le produit principal de la transformation du sucre, dans d'autres, il est absent ou à l'état de traces; l'alcool butylique normal est parfois en quantité presque égale à celle de l'alcool éthylique, il arrive que ce dernier est absolument pur. Il y a la même irrégularité dans les proportions des acides gras volatils.

Cette variabilité dans les produits de la fermentation est un phénomène des plus intéressants. Pasteur l'avait observée dans les produits de la fermentation butyrique du lactate de chaux; mais ici elle pouvait, comme le fait remarquer M. Duclaux, être attribuée à une différence dans la nature des ferments. Dans l'étude du vibrion septique, les propriétés pathogènes de l'organisme, faciles à vérifier à l'issue de chaque expérience, permettent de s'assurer qu'il n'y a pas eu substitution de microbes et de rattacher les irrégularités de la fermentation à des modifications biologiques du ferment, modifications en rapport avec les conditions physiques et chimiques de son développement.

L'étude du déterminisme de ces modifications biologiques est malheureusement, non seulement très délicate, mais très longue, chaque fermentation durant, comme je le disais plus haut, plusieurs mois. La cause de variations qui me semble le mieux établie, à l'heure actuelle, est l'action de l'oxygène, soit sur la fermentation elle-même, soit sur le microbe avant l'ensemencement.

Tout en poursuivant l'étude des fermentations du glucose, j'ai cherché l'action du vibrion septique sur un certain nombre d'autres substances fermentescibles : l'amidon subit une fermentation dont les termes ultimes semblent les mêmes que ceux d'une fermentation de glucose; on trouve de plus constamment dans les liquides fermentés une érythrodextrine, sans trace de glucose.

Le saccharose ne parait pas être interverti, le lactose fermente avec activité, la glycérine mal, le lactate de chaux pas du tout. Ce dernier fait a une importance particulière; il prouve que le vibrion septique est essentiellement différent du ferment butyrique de Pasteur, dont le rapprochent sa forme et son caractère essentiellement anaïrobie.

J'ai en vain tenté de constater la présence de diastases dans les bouillons de culture du vibrion septique. Je n'y ai trouvé ni sucrase, ni amylase, ni présure, ni pepsine.

J'ai commencé, dans le laboratoire de M. Arloing, des expériences physiologiques, en vue d'étudier les toxines sécrétées par le vibrion septique dans ses bouillons de culture. Ces bouillons deviennent rapidement très toxiques ; par injection intraveineuse, ils peuvent tuer les chiens en moins de deux heures, à la dose de 5^{cc} par kg. d'animal. La substance active est retenue en grande partie par le filtre Chamberland, elle est détruite par une température de 120°, elle est fortement altérée par l'alcool, et lentement par l'action de l'air.

Ces expériences se poursuivent.

II

PUBLICATIONS DIVERSES

36. — **Histoire des quinones.** *(Thèse d'agrégation,* G. Masson, éditeur, 1883.)

Comme les thèses d'agrégation, en général, ce travail n'est qu'un tableau aussi complet que possible de l'état de la science sur la question des quinones en 1883.

37. — **Les ptomaïnes et les leucomaïnes au point de vue de la médecine légale.** *(Archives de l'anthropologie criminelle et des sciences pénales,* t. I, p. 509-536, 1886.)

Dans cette revue critique, je cherche à établir dans quelle mesure la découverte récente des ptomaïnes et leucomaïnes complique la recherche médico légale des alcaloïdes végétaux.

38. — **Les couleurs de la houille au point de vue de l'hygiène.** *(Lyon médical, 1889.)*

Etude critique des travaux récents publiés en France et à l'étranger sur cette importante question.

VALENCE, IMPRIMERIE JULES CÉAS ET FILS.